

Incidencia de *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina y de *Escherichia coli-Klebsiella pneumoniae* con producción de b-Lactamasa de Espectro Ampliado en el Hospital de Son Llàtzer, durante el periodo 2003-2006: Un análisis de serie temporal

A. Pareja¹, A. Payeras², P. Roca³, A. Tobías⁴, M^a.P. Díaz⁵, M^a.C. Pérez⁵

Introducción

La emergencia y diseminación de la resistencia bacteriana, es considerada desde hace años como un fenómeno creciente alrededor del mundo y de gran complejidad.¹⁻³ La vigilancia de la resistencia, es esencial para proveer información sobre la magnitud y las tendencias de la resistencia y para evaluar el efecto de las medidas de intervención.^{4,5} Tanto *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina (MRSA) como algunos Bacilos Gramnegativos (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) productores de b-Lactamasa de Espectro Ampliado (BGN-bLEA) son paradigmas de la resistencia antimicrobiana.

El MRSA es un *S. aureus* que presenta resistencia intrínseca a la Meticilina y produce b-Lactamasas. Además la mayoría de las cepas son resistentes a otros antibióticos, incluyendo aminoglucósidos, eritromicina, clindamicina, tetraciclinas, y sulfamidas. En la década de los 80, las cepas de MRSA se extendieron por hospitales de Europa, Australia y Estados Unidos. La prevalencia de MRSA en los hospitales españoles ha seguido un curso ascendente. Así, la resistencia a la Meticilina, que era del 1,5% en el año 1986, pasó a ser del 18% en 1996. Otro dato destacable fue la extensión a hospitales pequeños: en 1996, el 22% de estos microorganismos se aislaban en hospitales con menos de 500 camas.^{6,7}

Las cepas que producen bLEA, en su mayoría enterobacterias, y en particular *K. pneumoniae* y *E. coli*, son resistentes a todos los antibióticos blactámicos con la excepción de los carbapenemes, las cefamicinas y las combinaciones de blactámicos con inhibi-

dores de blactamasas. Los datos de resistencia antibiótica han demostrado que los BGN-bLEA tienen una amplia distribución mundial, aunque con grandes diferencias según las áreas geográficas. En España, los resultados muestran que en algunos hospitales, hasta el 16,7% de *K. pneumoniae* (en su mayor parte nosocomiales), y el 2,4% de *E. coli* (el 51% de aislamientos procedentes de la comunidad), son productores de bLEA.⁸⁻¹⁰

El análisis de una serie temporal permite, por un lado describir la evolución pasada de una variable y, por otro, formular predicciones sobre un futuro más o menos cercano.¹¹

El objetivo de nuestra investigación fue estudiar el comportamiento temporal de la incidencia de MRSA y de dos BGN-bLEA (*E. coli* y *K. pneumoniae*) detectados en el Hospital Son Llàtzer de Palma de Mallorca desde enero de 2003 hasta diciembre de 2006.

Material y método

Realizamos un estudio ecológico de series temporales de los casos incidentes de MRSA y BGN-bLEA (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) notificados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Son Llàtzer entre enero de 2003 y diciembre de 2006 a la Unidad de Epidemiología y Control de Infecciones (UECI).

El Hospital Son Llàtzer, dependiente del Servicio Balear de Salud, es un hospital docente de tercer nivel, con 377 camas y que atiende a una población de referencia de aproximadamente 250.000 habitantes. Desde la apertura del mismo la UECI y el Laboratorio de Microbiología protocolizaron la notificación urgente a la UECI de una serie de microorganismos multirresistentes centinelas (MoMrC), colaborando estrechamente de esta forma ambos servicios en la vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales.

1- Unidad de Epidemiología y Control de Infecciones. Hospital Son Llatzer

2- Unidad de Enfermedades Infecciosas. Hospital Son Llatzer

3-Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud. UIB

4- Departamento de Estadística. Universiad Carlos III. Madrid.

5- Laboratorio de Microbiología. Hospital Son Llatzer

El análisis estadístico se realizó con la aplicación Stata v. 9.0 (StataCorp LP).

Resultados

Dado que los dos MoMrC que hemos estudiado son muy diferentes y dado que las características epidemiológicas y clínicas difieren mucho también, exponemos los resultados de nuestro estudio por separado para cada uno de ellos.

Staphylococcus aureus Resistente a la Metilina

Se notificaron 261 casos de Staphylococcus aureus Resistente a la Metilina desde Enero de 2003 hasta Diciembre de 2006. El promedio anual fue de 65.3 y una Mediana de 69.5, con un nivel de dispersión no muy elevado (DE 9.5). La evolución de la frecuencia anual en los MRSA notificados entre los años 2003 y 2006 fue de 51, 69, 70 y 71 respectivamente (Tabla 1).

Hubo un incremento de MRSA notificados del 35% entre los años 2003 y 2004, pero en cambio el incremento comparativo entre 2004 y 2005, y de 2005 versus 2006 fue del 2% en ambos tramos temporales (Tabla 2).

La media mensual fue de 4.3, 5.8, 5.8 y 5.9 (DE 1.6, 2.1, 3.6 y 2.5) respectivamente para los cuatro años estudiados (Tabla 1). En el Gráfico 1 se muestra la evolución de la frecuencia mensual en MRSA notificados entre los años 2003 y 2006.

Como valores extremos hubo un incremento en la notificación de MRSA del 62% en el mes de mayo y un descenso del 43% en el mes de julio, siempre en

	2003	2004	2005	2006	2007
Enero	3	6	7	5	6
Febrero	4	6	3	5	5
Marzo	2	7	8	6	7
Abril	6	8	5	6	11
Mayo	6	9	16	3	13
Junio	6	5	5	8	6
Julio	4	2	3	3	7
Agosto	3	6	3	10	4
Septiembre	3	2	6	7	
Octubre	4	5	4	3	
Noviembre	3	6	5	5	
Diciembre	7	7	5	10	
Total Anual	51	69	70	71	
$\mu_a = 65.3$ $DE = 9.5$ $Md = 69.5$	$\mu_a = 4.3$ $DE = 1.6$ $Md = 4.0$	$\mu_a = 5.8$ $DE = 2.1$ $Md = 6.0$	$\mu_a = 5.8$ $DE = 3.6$ $Md = 5.0$	$\mu_a = 5.9$ $DE = 2.5$ $Md = 5.5$	

Fuente: Elaboración propia a partir del Sistema de Notificación Automática de Microorganismos Multirresistentes SNAMoMr

Tabla 1. Staphylococcus aureus Resistente a la Metilina detectados desde Enero de 2003 hasta Abril de 2007. Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

Marco Temporal	MRSA		BGN-bLEA	
	RR	(IC _{95%})	RR	(IC _{95%})
Mes				
Enero	1		1	
Febrero	0.86	(0.46-1.61)	0.64	(0.28-1.49)
Marzo	1.10	(0.61-1.98)	1.21	(0.60-2.46)
Abril	1.19	(0.67-2.13)	1.14	(0.56-2.34)
Mayo	1.62	(0.94-2.79)	1.01	(0.48-2.10)
Junio	1.14	(0.64-2.05)	1.36	(0.68-2.71)
Julio	0.57	(0.28-1.16)	1.07	(0.52-2.22)
Agosto	1.05	(0.58-1.91)	1.36	(0.68-2.71)
Septiembre	0.86	(0.46-1.61)	1.36	(0.68-2.71)
Octubre	0.76	(0.40-1.46)	2.36	(1.26-4.40)
Noviembre	0.91	(0.49-1.68)	1.50	(0.76-2.95)
Diciembre	1.38	(0.79-2.42)	1.07	(0.52-2.22)
Año				
2003	1		1	
2004	1.35	(0.94-1.94)	2.05	(1.22-3.45)
2005	1.37	(0.96-1.97)	3.14	(1.92-5.14)
2006	1.39	(0.97-1.99)	3.86	(2.39-6.23)
Tendencia anual	0.092		0.000	

Fuente: Elaboración propia a partir del Sistema de Notificación Automática de Microorganismos Multirresistentes SNAMoMr
MRSA= Staphylococcus aureus Resistente a la Metilina BGN-bLEA= Bacilos Gramnegativos (E. coli y K. pneumoniae) productores de b-Lactamasa de Espectro Ampliado
IC95%= Intervalo de Confianza al 95%

Tabla 2. Análisis de tendencia de la regresión de Poisson para MRSA y BGN-bLEA (Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae) detectados desde Enero de 2003 hasta Diciembre de 2006. Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca.

relación al mes de enero (Tabla 2). Para conocer el comportamiento intermensual de la serie temporal para los cuatro años estudiados hicimos una descomposición de la misma en meses y se estableció la mediana como mediada de centralización más adecuada.

El objetivo era determinar como se comportaba la tendencia para cada grupo de meses (los cuatro eneros, los cuatro febreros, los cuatro marzos, etc.), además de evaluar si existía algún componente cíclico o estacional en la serie (Gráfico 2).

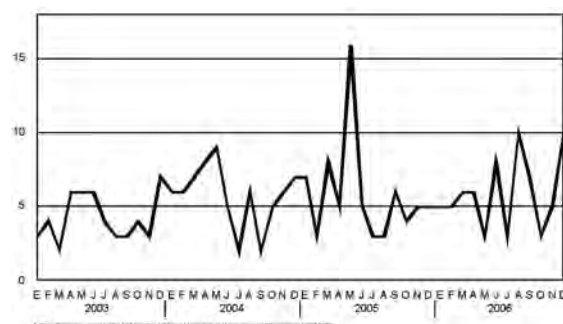


Gráfico 1. Distribución mensual de MRSA. Enero 2003 - Diciembre 2006. Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

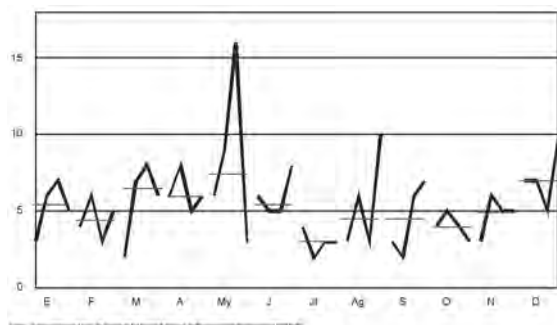


Gráfico 2. Descomposición mensual de MRSA.
Enero 2003 - Diciembre 2006
Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

También se construyó el canal endémico, para los años 2006 y 2007, de MRSA notificados (Gráfico 3).

Escherichia coli y *Klebsiella pneumoniae* productores de bLEA

Se notificaron 211 casos de bacilos Gramnegativos (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) productores de b-Lactamasa de Espectro Ampliado desde Enero de 2003 hasta Diciembre de 2006. El promedio anual fue de 52.8 y una Mediana de 54.5, con un elevado nivel de dispersión (DE 26.3). La evolución de la frecuencia anual en los BGN-bLEA notificados entre los años 2003 y 2006 fue de 21, 42, 67 y 81 respectivamente (Tabla 3).

Hubo un incremento de BGN-bLEA notificados del 205% entre los años 2003 y 2004, del 314% entre 2004 y 2005, y del 386% en 2005 versus 2006 ($p=0.000$) (Tabla 3).

	2003	2004	2005	2006	2007
Enero	0	4	5	5	9
Febrero	1	0	2	6	9
Marzo	3	6	4	5	5
Abril	1	2	8	5	6
Mayo	2	2	4	6	13
Junio	1	4	9	5	13
Julio	1	1	6	7	9
Agosto	3	2	4	10	6
Septiembre	0	3	8	7	
Octubre	5	11	6	11	
Noviembre	3	4	5	9	
Diciembre	1	3	6	5	
Total	21	42	67	81	
$\mu_a = 52.8$	$\mu_m = 1.3$	$\mu_m = 3.0$	$\mu_m = 4.5$	$\mu_m = 5.3$	
$DE = 26.3$	$DE = 1.3$	$DE = 2.6$	$DE = 2.7$	$DE = 0.5$	
$Med = 54.5$	$Med = 1.0$	$Med = 3.0$	$Med = 4.0$	$Med = 5.0$	

Fuente: Elaboración propia a partir del Sistema de Notificación Automática de Microorganismos Multirresistentes SNAMoMr

Tabla3: Bacilos Gramnegativos (*Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*) productores de b-Lactamasa de Espectro Ampliado detectados desde Enero de 2003 hasta Abril de 2007. Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

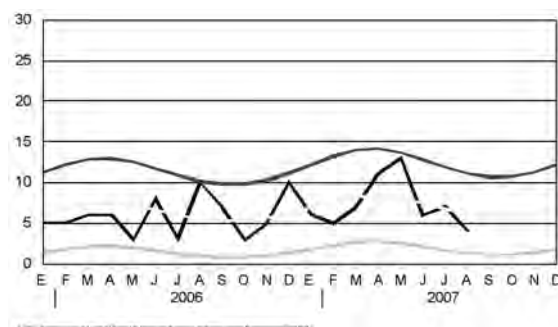


Gráfico 3. Canal Endémico para 2006-2007 de MRSA.

Casos observados Ene-Dic 2006 y Ene-Ago 2007
Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

La media mensual fue de 1.3, 3.0, 4.5 y 5.3 (DE 1.3, 2.6, 2.7 y 0.5) respectivamente para los cuatro años estudiados (Tabla 3). En el Gráfico 4 se muestra la evolución de la frecuencia mensual en los BGN-bLEA notificados entre los años 2003 y 2006.

Como valores extremos en los BGN-bLEA notificados hubo un incremento del 236% en el mes de octubre ($p=0.007$) y un descenso del 36% en el mes de febrero, siempre en relación al mes de enero.

Para conocer el comportamiento intermensual de la serie temporal para los cuatro años estudiados hicimos una descomposición de la misma en meses y se estableció la mediana como medida de centralización más adecuada. (Gráfico 5).

También se construyó el canal endémico para los años 2006 y 2007 de BGN-bLEA notificados (Gráfico 6).

Discusión

No hay demasiados estudios en los que se investiga el comportamiento en el tiempo de unos MoMrC (MRSA y BGN-bLEA) con metodología específica de series cronológicas. La principal desventaja de los métodos de series temporales, al igual que otros estudios ecológicos basados en datos agregados, radica en la posibilidad de incurrir en la co-nocida falacia ecológica. Sin embargo, la posibilidad de confusión es menor que en los estudios geográficos (agregados). Otra circunstancia importante es tener en cuenta que tal vez nuestra serie es algo limitada. Hasta ahora disponemos de 4 años completos (el primer año se descartó por las posibles variaciones que se pudieron producir con la puesta en marcha del Hospital).

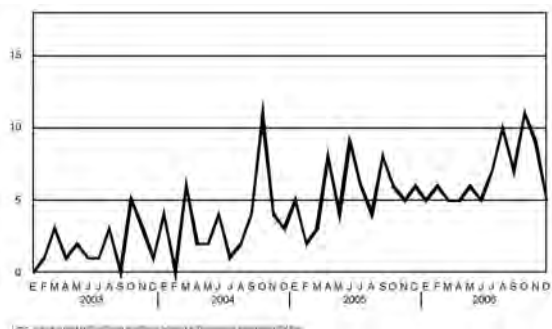


Gráfico 4. Distribución mensual de BGN-?LEA
Enero 2003 - Diciembre 2006
Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

Puede que nuestras series no sean lo suficientemente grandes para obtener unas predicciones muy ajustadas, teniendo en cuenta además, el marcado componente aleatorio de las infecciones nosocomiales, fenómeno influido por un numeroso grupo de factores (del personal, política de antibióticos, técnicas de cuidados, procedimientos, material, estancia media, etc.), muchos de ellos no controlables, aunque sí cuantificables. Son estos factores no controlables los que provocan la elevada aleatoriedad.

El uso de los canales endémicos ha sido muy útil como metodología para conocer la tendencia en el comportamiento de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Habitualmente se construyen como sistema de vigilancia epidemiológica para enfermedades infecciosas en la comunidad. No hay una excesiva experiencia en la construcción de dichos canales para establecer curvas de expectativa para infecciones nosocomiales.^{12,13} En cuanto a la elaboración de canales endémicos para microorganismos no hemos podido localizar ninguna publicación específica. Nosotros elaboramos dichos canales, no para enfer-

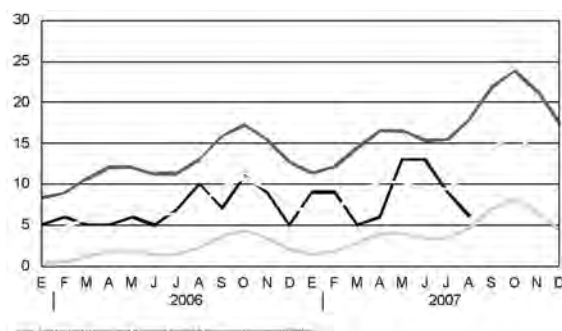


Gráfico 6: Canal Endémico para 2006-2007 de
BGN-?LEA
Casos Observados Ene-Dic 2006 y Ene-Ago 2007
Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

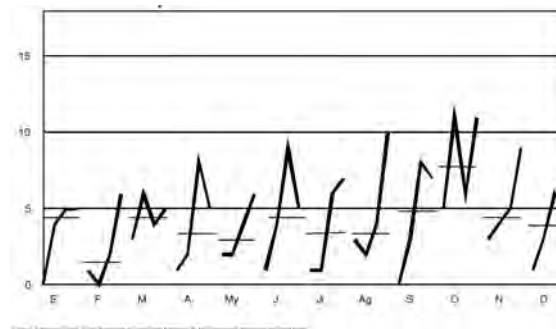


Gráfico 5. Descomposición mensual de BGN-?LEA
Enero 2003 - Diciembre 2006
Hospital Son Llatzer. Palma de Mallorca

medades sino para MoMrC y de esta forma poder disponer de información sobre la endemia y el comportamiento temporal de dichos agentes biológicos. Habitualmente, los canales endémicos se construyen con series de casos de 5 a 7 años.¹⁴

Staphylococcus aureus Resistente a la Metilina

Nos llamó poderosamente la atención la estabilidad temporal en la notificación de MRSA, sobre todo si exceptuamos el primer año estudiado (año 2003). En los años siguientes 2004, 2005 y 2006 se detectaron prácticamente el mismo número de casos aproximadamente unos 70 anuales. Esa estabilidad contrasta con lo que dice la literatura, ya que habitualmente se insiste en el aumento anual en el número de MRSA identificados.^{6,15-18} Aunque la comparabilidad fue difícil de establecer dado que se utilizan criterios diferentes. Considerando el año 2003 como año de referencia y mediante el análisis de regresión de Poisson observamos una tendencia ascendente entre 2003 y 2004. Y ese ascenso se mantuvo prácticamente constante para los años 2005 y 2006. Cuando comparamos los años 2004, 2005 y 2006 la tendencia ascendente paso a ser casi imperceptible. Esa regularidad en la notificación anual de casos de MRSA se puso aún más de manifiesto al analizar el promedio mensual de casos. Los años 2004 al 2006 tuvieron prácticamente la misma cantidad media mensual, alrededor de 6 MRSA mensuales y con un grado de dispersión similar. El año 2005 tuvo un grado de dispersión algo más elevado, debido al pico de casos que se produjo en el mes de mayo de ese año. Considerando el mes de enero como mes de referencia y mediante el análisis de regresión de Poisson no se observó ningún componente cíclico ni estacional. Esto además se confirmó mediante el análisis de la descomposición mensual con la mediana.

No se pudo encontrar componente de tendencia para cada grupo de meses, ni tampoco ningún componente cíclico ni estacional. Observamos el incremento porcentual mayor de casos notificados durante el mes de mayo y el decremento porcentual mayor durante el mes de julio. Ese incremento porcentual progresivo desde el mes de febrero hasta mayo podría correlacionarse con el tipo de pacientes atendidos, la patología más prevalente y los antibióticos más utilizados en dicho periodo de tiempo. Mayoritariamente son pacientes ancianos, con patología respiratoria crónica y con un gran uso de fluoroquinolonas (sobre todo levofloxacino) como tratamiento antibiótico.¹⁹ El decremento en los meses de junio y julio se podría explicar por la inversión de las circunstancias anteriormente descritas. Además vivimos en el hemisferio norte, con meses fríos que van desde diciembre hasta abril y con meses cálidos que van desde junio hasta octubre. Por tanto un componente climático si que podría estar interviniendo. Las diferencias observadas, tanto a nivel interanual como intermensual, no fueron estadísticamente significativas según el análisis de regresión de Poisson.

Aplicando los casos notificados en 2006 en el canal endémico elaborado para el bienio 2006-2007 se observaron las siguientes circunstancias. A lo largo del año 2006 estuvimos en dos ocasiones, meses de agosto y diciembre, por encima de la línea media esperada (en zona de alerta). En concreto el mes de agosto se rozó el límite epidémico. Esos dos periodos coincidieron con época vacacional en la que hubo un aumento importante del personal sustituto. Los casos recogidos hasta agosto de 2007 muestran un comportamiento temporal similar a las curvas de expectativas para el canal endémico de 2006-2007. A pesar de que los meses de abril y mayo están por encima de la línea media esperada (en zona de alerta).

***Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de bLEA**

Para estos dos BGN-bLEA la situación es completamente a la inversa de la descrita para MRSA. De 2003 a 2004 se duplicó el número de casos notificados, se pasaron de 21 a 42. En los años siguientes 2004, 2005 y 2006 se detectó un incremento de cerca de 20 casos para cada año. Parece ser que la literatura habla del incremento en la notificación de este tipo de microorganismos.^{20,21} Aunque aquí también la comparabilidad es muy difícil dado que se utilizan criterios diferentes. Considerando el año 2003 como año de referencia y mediante el análisis de regresión de Poisson observamos una tendencia marcadamente

ascendente para toda nuestra serie temporal, desde 2003 hasta 2006 ($p=0.000$). Ese claro incremento en la notificación anual de casos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de bLEA se puso aún más de manifiesto al analizar el promedio mensual de casos. Desde 2003 hasta 2006 hubo un aumento continuo en la cantidad media mensual pero con un cierto grado de dispersión (hubo picos y valles mensuales todos los años de la serie). El año 2006 tuvo el número medio mensual de casos más elevado de toda la serie con un grado de dispersión muy bajo. Considerando el mes de enero como mes de referencia y mediante el análisis de regresión de Poisson tampoco se observó ningún componente cíclico ni estacional para este tipo de microorganismos multirresistentes. Esto además se confirmó mediante el análisis de la descomposición mensual con la mediana. Con este análisis tampoco se pudo encontrar componente de tendencia para cada grupo de meses, ni ningún componente cíclico ni estacional. Observamos el incremento porcentual mayor de casos notificados durante el mes de octubre ($p=0.007$) y el decremento porcentual mayor durante el mes de febrero. Revisando la serie se pudo comprobar que prácticamente cada año durante el mes de octubre se produjo el mayor número de casos. El resto de meses hubo un comportamiento totalmente irregular. Una vez analizada la información pensamos que esta circunstancia podría tener que ver, entre otras, con la utilización por patología estacional de algunos antibióticos.

Aplicando los casos notificados en 2006 en el canal endémico elaborado para el bienio 2006-2007 se observan las siguientes circunstancias. A lo largo del año 2006, sólo durante el mes de agosto estuvimos algo por encima de la línea media esperada (en zona de alerta). En cambio hasta agosto de 2007 se han producido dos picos que están por encima de la línea media esperada (en zona de alerta) enero-febrero y mayo-junio. Estas circunstancias nos llevan a pensar que muy probablemente estamos ante una endemia elevada mantenida.

Se puede concluir de esta investigación una serie de datos importantes a tener en cuenta. A pesar de la diferencia en la tendencia temporal de nuestra serie para los microorganismos multirresistentes estudiados, podemos afirmar que tanto *Staphylococcus aureus* Resistente a la Meticilina como *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de b-Lactamasa de Espectro Ampliado presentan una endemia mantenida elevada.

El análisis de la serie no ha detectado ningún componente cíclico ni estacional. Además el estudio pone de manifiesto indirectamente que las medidas de vigilancia, prevención y control de las infecciones nosocomiales se aplican de manera sistemática y rigurosa. Dado que trabajamos con endemias elevadas mantenidas de unos microorganismos multirresistentes peligrosos y que no se ha producido ningún brote epidémico en estos cuatro años podemos considerar que nuestras actuaciones son correctas.

Bibliografía

1. Hughes JM, Tenover FC. Approaches to limiting emergence of antimicrobial resistance in bacteria in human populations. *Clin Infect Dis* 1997;24:S131-5.
2. Tenover FC, Hughes JM. The challenges of emerging infectious diseases. Development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. *JAMA* 1996;275:300-4.
3. World Health Organization. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Executive Summary. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2a Geneva 2001.
4. Shlaes DM, Gerding DN, John JF, Craig WA, Bornstein DL, Duncan RA et al. Society for Healthcare Epidemiology of America and Infectious Diseases Society of America Joint Committee on the Prevention of Antimicrobial Resistance: guidelines for the prevention of antimicrobial resistance in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997;18:275-91.
5. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, et al, and Infectious Diseases Society of America; Society for Healthcare Epidemiology of America. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Clin Infect Dis* 2007;44:159-77.
6. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. *Clin Infect Dis* 2001;32:S114-32.
7. Cercenado E, Sánchez-Carrillo C, Alcalá L, Bouza E. Situación actual de la resistencia de *Staphylococcus* en España. Grupo de Trabajo para el estudio de estafilococos. Cuarto estudio nacional (1996). *Rev Clin Esp* 1997; 197:12-18.
8. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51.
9. Winokur PL, Cantón R, Casellas JM, Legakis N. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum b-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific Region. *Clin Infect Dis* 2001;32:S94-103.
10. Hernández JR, Pascual A, Cantón R, Martínez-Martínez L y Grupo de Estudio Infección Hospitalaria (GEIH). *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* productores de betalactamasas de espectro extendido en hospitales españoles (Proyecto GEIH-BLEE 2000). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21:77-82.
11. Sáez M, Pérez-Hoyos S, Tobías A, Saurina C, Barceló MA, Ballester F. Time series methods in epidemiological studies on air pollution. [Article in Spanish] *Rev Esp Salud Pública* 1999;73:119-130.
12. Carrasco Asenjo M, Delgado Garcia A, Fernandez Perez C, Prieto Valiente L, Jimeno Maestro J, Andrades Aragonés E. Epidemiologic surveillance of hospital infection. Preliminary analysis of a 5-year series. [Article in Spanish] *Med Clin (Barc)* 1990;95:201-6.
13. Lopez del Val JA, Calvete Fernandez HI, Carreter Oronez CA, Abaurrea Leon J, Muniesa Cuenca MP, Garcia Mata JR, et al. Time-series analysis applied to nosocomial infection. [Article in Spanish] *Med Clin (Barc)* 1992;99:52-6.
14. Bortman M. Establishing endemic levels of ranges with computer spreadsheets. [Article in Spanish] *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health* 1999;5:1-8.
15. Simor AE, Ofner-Agostini M, Bryce E, Green K, McGeer A, Mulvey M et al. The evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals: 5 years of national surveillance. *CMAJ* 2001;165:21-6.
16. Brites C, Silva N, Sampaio-Sa M. Temporal evolution of the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a tertiary hospital in Bahia, Brazil: a nine-year evaluation study. *Braz J Infect Dis* 2006;10:235-8.
17. Asensio A, Cantón R, Vaque J, Rosselló J, Arribas JL. Etiology of hospital-acquired infections in Spanish hospitals (EPINE, 1990-1999). [Article in Spanish] *Med Clin (Barc)* 2002;118:725-30.
18. Asensio A, Canton R, Vaque J, Rossello J, Calbo F, Garcia-Caballero J et al. Nosocomial and community-

acquired meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in hospitalized patients (Spain, 1993-2003). *J Hosp Infect* 2006;63:465-71.

19. MacDougall C, Harpe SE, Powell JP, Johnson CK, Edmond MB, Polk RE. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and fluoroquinolone use. *Emerg Infect Dis* 2005;11:1197-204.

20. Pop-Vicas AE, D'Agata EM. The rising influx of multidrug-resistant gram-negative bacilli into a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis* 2005;40:1792-8.

21. D'Agata EM. Rapidly rising prevalence of nosocomial multidrug-resistant, Gram-negative bacilli: a 9-year surveillance study. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2004;25:842-6.

